

CLIPPEDIMAGE= JP02001122869A

PAT-NO: JP02001122869A

DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 2001122869 A

TITLE: TOCOTRIENOLS PURIFIED BY USING LIQUID CHROMATOGRAPHY
AND METHOD FOR
PRODUCING TOCOTRIENOLS

PUBN-DATE: May 8, 2001

INVENTOR-INFORMATION:

NAME	COUNTRY
BELLAIORE, LOUIS	N/A
HENRETTA, KEVIN	N/A

ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME	COUNTRY
TECHNIKROM INC	N/A

APPL-NO: JP2000274559

APPL-DATE: September 11, 2000

INT-CL_(IPC): C07D311/72

ABSTRACT:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a method for separating tocotrienols from tocopherols and isomers thereof in large scale or actually feasible base.

SOLUTION: This method for isolating the tocotrienols, tocopherols and isomers thereof from crude initial raw materials by using a reverse phase liquid chromatography is characterized by the following steps: a step for preparing a fixed phase including a lipophilic particle medium; a step for preparing a mobile phase capable of solubilizing the crude raw materials, and target products of tocotrienols and tocopherols; a step for making a liquid chromatograph column by using the fixed phase, the mobile phase; a step for charging the crude raw materials into the chromatograph column; and a step for eluting the tocotrienols, the tocopherols and the isomers thereof by using a comparatively constant linear velocity of the mobile phase.

COPYRIGHT: (C)2001,JPO

(11)特許出願公開番号
特開2001-122869
(P2001-122869A)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-ト*(参考)
C 0 7 D 311/72	1 0 1	C 0 7 D 311/72	1 0 1 4 C 0 6 2
	1 0 3		1 0 3

(21) 出願番号	特願2000-274559(P2000-274559)
(22) 出願日	平成12年9月11日(2000.9.11)
(31) 優先権主張番号	60/153308
(32) 優先日	平成11年9月10日(1999.9.10)
(33) 優先権主張国	米国(US)

(71)出願人 500424212
 テクニクロム・インコーポレーテッド
 アメリカ合衆国イリノイ州60201, エヴァ
 ンストン, メイプル・アベニュー 1801

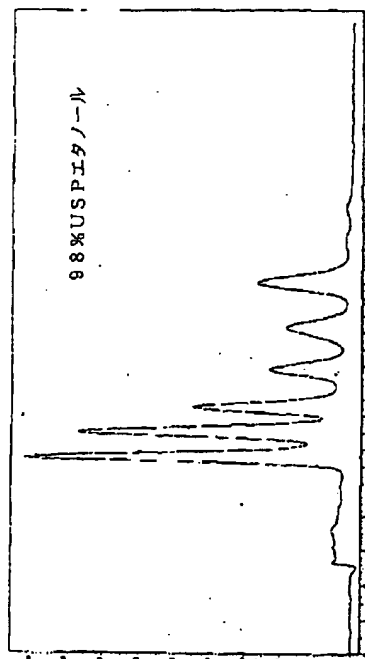
(72)発明者
 ルイス・ベラフロア
 アメリカ合衆国イリノイ州60201, エヴァ
 ンストン, メイプル・アベニュー 1801

(72)発明者
 ケヴィン・ヘンレッタ
 アメリカ合衆国イリノイ州60201, エヴァ
 ンストン, メイプル・アベニュー 1801

(74)代理人 100089705
 弁理士 社本 一夫 (外5名)

Fターム(参考) 4C062 FF16 FF57 FF85

【解決手段】 トコトリエノール類、トコフェロール類及びそれらの異性体類を粗初期原料から逆相液体クロマトグラフィを用いて単離する方法であって：親油性粒子媒体を含む固定相を準備し；粗原料とトコトリエノール類及びトコフェロール類の目的製品とを可溶化し得る移動相を準備し；上記固定相及び移動相を用いて液体クロマトグラフカラムを作り；そのクロマトグラフカラムに粗原料を仕込み；そして移動相の比較的に一定の線速度において粗原料からトコトリエノール類、トコフェロール類及びそれらの異性体類を溶離する；ことを特徴とする上記単離方法。



BEST AVAILABLE COPY

【特許請求の範囲】

【請求項1】 トコトリエノール類、トコフェロール類及びそれらの異性体類を粗初期原料から逆相液体クロマトグラフィを用いて単離する方法であって：親油性粒子媒体を含む固定相を準備し；粗原料とトコトリエノール類及びトコフェロール類の目的製品とを可溶化し得る移動相を準備し；上記固定相及び移動相を用いて液体クロマトグラフカラムを作り；そのクロマトグラフカラムに粗原料を仕込み；そして移動相の比較的に一定の線速度において粗原料からトコトリエノール類、トコフェロール類及びそれらの異性体類を溶離する；ことを特徴とする上記単離方法。

【請求項2】 固定相の粒子がシリカからなる請求項1の方法。

【請求項3】 固定相が単一寸法の球状粒子からなる請求項1の方法。

【請求項4】 移動相がアルコール及び水を含む請求項1の方法。

【請求項5】 移動相をなすアルコールが、USPエタノール及びメタノールから成る群より選択される請求項4の方法。

【請求項6】 移動相の水含量が移動相全体の30%より少ない請求項4の方法。

【請求項7】 移動相がアセトニトリル及び水を含む請求項1の方法。

【請求項8】 移動相における水濃度に対してのアルコールの濃度を溶離中に次第に増加させる請求項4の方法。

【請求項9】 トコトリエノール類、トコフェロール類及びそれらの異性体類を粗初期原料から逆相液体クロマトグラフィを用いて単離する方法であって：10ないし80マイクロメートルの範囲内の単一寸法球状の親油性粒子媒体を含む固定相を準備し；粗原料とトコトリエノール類及びトコフェロール類の目的製品とを可溶化し得る移動相を準備し；上記固定相及び移動相を用いて液体クロマトグラフカラムを作り；そのクロマトグラフカラムに粗原料を仕込み；そして移動相の50cm/hrないし1000cm/hrの比較的に一定の線速度において粗原料からトコトリエノール類、トコフェロール類及びそれらの異性体類を溶離する；ことを特徴とする上記単離方法。

【請求項10】 固定相が15ないし35マイクロメートルの結合された不規則寸法のシリカ粒子から成り；移動相が70%ないし100%のUSPエタノールを含み；そしてトコトリエノール類及びトコフェロール類の溶離が移動相の50cm/hrないし1000cm/hrの比較的に一定の線速度で実施される；請求項1の方法。

【請求項11】 10ないし80マイクロメートルの範囲内の単一寸法シリカ球状粒子を含む第2固定相を準備

し；その第2固定相を用いて第2液体クロマトグラフカラムを作り；70%ないし100%のUSPエタノールを含む第2移動相を準備し；100分毎に固定相100グラム当たり初期分離で溶離されたトコトリエノール類及びトコフェロール類の溶離物0.5グラムを仕込み；そして前の溶離トコトリエノール類またはトコフェロール類から移動相の50cm/hrないし1000cm/hrの比較的に一定の線速度で精製されたトコトリエノール類またはトコフェロール類を溶離する；追加の工程を含む請求項10の方法。

【請求項12】 移動相が96%のUSPエタノールを含み；クロマトグラフカラが、固定相100グラム当たり2.7グラムの粗抽出物を仕込まれ；そしてトコトリエノール類及びトコフェロール類の溶離が移動相の50cm/hrの比較的に一定の線速度で実施される；請求項10の方法。

【請求項13】 トコトリエノール類、トコフェロール類及びそれらの異性体類を粗初期原料から逆相液体クロマトグラフィを用いて単離する方法であって：10マイクロメートルの単一寸法球状のシリカ粒子を含む固定相を準備し；90%のUSPエタノール及び10%の水を含む移動相を準備し；上記固定相及び移動相を用いて液体クロマトグラフカラムを作り；そのクロマトグラフカラムに固定相100グラム当たり1グラムの粗原料を仕込み；そして移動相の360cm/hrの比較的に一定の線速度において粗原料からトコトリエノール類、トコフェロール類及びそれらの異性体類を溶離する；ことを特徴とする上記単離方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、一般的には、逆相液体クロマトグラフィを用いて商業的に実行できる量のトコトリエノール類、トコフェロール類及びそれらの異性体類、あるいはトコトリエノール類またはトコフェロール類に富む粗原料を製造する方法に関する。

【0002】

【従来の技術】トコフェロールは、酸化防止剤として広く使用され、化粧品、薬品、ニュートラ（商標）製品（低カロリー食品類）、食品及びファイン化学工業において利用されている。トコフェロールの4つの主たる異性体（アルファ、ベータ、デルタ及びガンマ）は、一般的には個々に呼称され、また「ビタミンE」群として呼称される。トコトリエノール類は、構造的にはトコフェロール類に非常に類似しており、これもまた4つの主たる異性体（アルファ、ベータ、デルタ及びガンマ）を有する。トコトリエノール類は、トコフェロール類よりも酸化防止活性の著しい増加を与えることが証されている。最近の研究は、トコトリエノール類が（そしてトコフェロール類が若干低度）にある種の健康上の利点を与えることを明らかにしており、それらの利点としては、

それらの酸化防止性による血清コレステロール濃度の低下及び心臓冠動脈症の予防が含まれる。トコトリエノール類及びトコフェロール類は、製造された時またはその他の方法で単離された時に、それらの類似性の故に、一緒に見出される。従って、これらの2種の化合物の分離は、これらの物質の個々の種を評価しまたは製造するために必要である。

【0003】トコトリエノール類及びトコフェロール類をそれらを含む粗混合物から濃縮し、及び／または精製するのに使用できるいくつかの方法が当技術分野で知られている。一般的な化学的分離方法には、抽出、蒸留（分別蒸留及び分子蒸留）、膜透過及びクロマトグラフィが包含される。クロマトグラフィのなかには、応用できる吸着クロマトグラフィ、分配クロマトグラフィ、イオン交換クロマトグラフィ及びサイズ排除クロマトグラフィを包含するいくつかの一般的なサブカテゴリーがある。

【0004】従来技術は、トコトリエノール類及びトコフェロール類の分離に向けられた従前に開発され、発表されたいくつかのクロマトグラフ法を含む。これらの方法のいくつかは、トコトリエノール類及びトコフェロール類の定性及び定量分析のためにのみ設計され、従ってプロセスクロマトグラフィ（商業的規模で混合物から実質的な量の純粋物質を単離し、回収するためのクロマトグラフィの使用）のためには適当ではない。その他の方法は、予備作業用に設計されているが、トコトリエノール類の異性体の全て及びトコフェロール類の異性体の全てを2つの異なる溶離物質の群への別々の分離を与えない。

【0005】従来技術の液体クロマトグラフ法、殊に以下に記載されるものは、かくして、二つのカテゴリーにわけられる：すなわち、分析を机上分析HPLC装置で行えるようにするため極めて低濃度の異なる成分同士を分割するように設計された分析用液体クロマトグラフ法；及び粗原料からの特定の成分の商業的精製のために設計された予備的（プロセス）液体クロマトグラフ法；である。従来技術は、トコトリエノール類及び／またはトコフェロール類を精製するために、あるいはさらに、トコトリエノール類異性体の全て及びトコフェロール類異性体の全てを同時に分離するための簡単な1方法を与えるために、商業的に使用され得る逆相分配液体クロマトグラフ法を開示している。

【0006】米国特許第4,122,094号(Wozniwodzki)明細書には、トコフェロールの異性体類を液体／固体クロマトグラフィによって分離する方法を詳述している。この米国特許方法は、商業的生産のために有用な大規模分離ではなく、通常相媒体の使用によるトコフェロール異性体の分析的分離に向けられている。この米国特許明細書においては、その開示方法をトコトリエノール類からトコフェロール類を分離するため

に使用すること、あるいはトコフェロールの異性体類を分離することが、検討されていない。

【0007】米国特許第5,157,132号(Tan等)明細書には、植物油からカロチノイド類及びトコトリエノール類を回収するための一貫生産方法が記載されている。この方法は、通常相吸着クロマトグラフィを使用し、粗材料中の成分が、時には非可逆的に、固定相に結合する。通常相媒体の寿命は、逆相（反転相）媒体の寿命よりも一般にはるかに短い。そのままでは、固定相がしばしば交換されなければならない、そして追加の労働時間が消費されるので、大規模プロセスの経済性が著しく影響を受ける。さらには、通常相クロマトグラフィのために典型的に使用される未誘導化シリカの表面は、（空気、溶媒及び粗原料からの）水に非常に感受性であり、これによって固定相の表面が不活性化され不均一な溶離分布（プロフィール）がもたらされる。またこの米国特許第5,157,132号の方法は、移動相としてヘキサンを使用する。このような溶媒は、エタノール及びメタノールのような他の移動相溶媒よりも有害であり、また高価である（廃棄費用も含めて）。最後にこの米国特許明細書にはトコトリエノール類からトコフェロール類を分離する方法を開示していない。

【0008】米国特許第5,190,618号明細書において、トップ(Top)等は、イオン交換クロマトグラフィによってヤシ油副製品から高濃度トコフェロール類及びトコトリエノール類の生産方法を開示している。イオン交換クロマトグラフィは、芳香族性及び／または疎水性固定相への分子の吸引に基づくのではなく、荷電固定相上の荷電分子の保持に基づいて分離する。この米国特許明細書に記載された方法の主たる欠点は、高度の分割を与えず、また粗原料中のトコフェロール類及びトコトリエノール類の間の分離さえも示さないことである。

【0009】米国特許第5,908,940号明細書において、トコトリエノール類、トコフェロール類及びトコトリエノール類似化合物を回収する方法が開示されている。この教示方法は、化学抽出を利用する。小規模な応用のために有用であるようであるが、この米国特許は、この方法が如何にして商業的操作において必要とされる大規模回収のために使用できるかについて検討していない。この米国特許は、また、その開示方法をトコトリエノール類及びトコフェロール類の個々の異性体の分離のために使用することも教示していない。

【0010】

【発明が解決しようとする課題】従って、本発明の目的は、トコトリエノール類及びトコフェロール類の種々の異性体の全てを、必要ならば高純度で、単離するための方法を提供することである。本発明のさらに一つの目的は、それら所望の製品を任意の必要とされる規模で（グラム、キログラム、トン単位）、単離することであ

る。本発明のさらに別の目的は、単一カラム逆相 (reverse phase) クロマトグラフ法を使用するか、または多重カラムシミュレート式移動床 (multiple column simulated moving bed; SMB) 逆相クロマトグラフ法による分離の二元性故に SMB 逆相クロマトグラフ法を使用することにより、商業的規模でトコフェロール類からトコトリエノール類を「種別分離 (class separation)」する方法を提供することである。本発明のさらなる一目的は、廉価かつ安全な移動相溶媒を利用する分離方法を提供することである。

【0011】

【課題を解決するための手段】本発明は、基本的には、トコトリエノール類、トコフェロール類及びそれらの異性体類を粗初期原料から逆相液体クロマトグラフィを用いて単離する方法であって：親油性粒子媒体を含む固定相を準備し；粗原料とトコトリエノール類及びトコフェロール類の目的製品とを可溶化し得る移動相を準備し；上記固定相及び移動相を用いて液体クロマトグラフカラムを作り；そのクロマトグラフカラムに粗原料を仕込み；そして移動相の比較的に一定の線速度において粗原料からトコトリエノール類、トコフェロール類及びそれらの異性体類を溶離する；ことを特徴とする上記単離方法を提供する。

【0012】以下に本発明の好ましい態様のいくつかを説明する。ここには、トコトリエノール類及びトコフェロール類を濃厚化し、精製するために塩、酸、または塩基変性剤を添加することなくアルコールまたはアセトニトリル溶媒系を使用する逆相分配クロマトグラフ法を説明する。通常相クロマトグラフィは、極性固定相と低極性移動相とを用いることにより親水性及び親油性に基づいて作動する。従って、疎水性化合物は、親水性化合物よりもはるかに迅速に溶離する。対照的に、逆相は親水性及び親油性に基づいて作動する。固定相が疎水性であればあるほど、カラムが疎水性物質を保持する傾向が大きくなる。従って、親水性化合物が、疎水性化合物よりも迅速に溶離する。

【0013】仕込み容量、固定相の物理的性質、移動相の線速度のようなある種のプロセスパラメーターは、最終製品の所望の純度に応じて変化し得る。例えば、僅かに富化 (enriched) ヤシ油原料は、料理用油を作るために、または家畜用飼料添加剤として使用し得るが、高度精製された形の単一異性体は、ヒト及びペットに対して著しい医療効果を与え得る。この明細書に開示されている一般的な方法は、トコトリエノール類またはトコフェロール類を所望される任意の純度 (1% から 100%) で含有する最終製品を生じ得る。以下のプロセス実施例に説明されるように、本発明方法は、95% を越える純度の最終製品を生じるように使用された。使用される本発明方法を包含するクロマトグラフィ分離法に

関係なく、天然または合成粗原料が、一般的には、クロマトグラフィ分離操作の効率を向上させるために、分子蒸留のようなクロマトグラフィ前処理 (prechromatographic) を必要とすることは、銘記されるべきである。

【0014】本発明の逆相液体クロマトグラフ分離方法の機能性は、三つの要素、すなわち、固定相、移動相、及び粗基質の負荷、によって左右される。以下に詳細に記載されるように、本発明の逆相液体クロマトグラフ法は、トコトリエノール類またはトコフェロール類の異性体の高品質、多量及び個別分離を得る新規方法を達成するためにこれら三つの要素の機能を利用し、最大化する。しかしながら、本発明方法は、所望により、より低い濃度及び富化 (enriched) された原料を製造するために使用することもできる。

【0015】固定相

大規模製造用液体クロマトグラフィで効果的に使用され得るためには、固定相は、良く特性化され、大量に入手可能であり、そして再現性のある製法を用いて製造されなければならない。本発明の好ましい態様において、固定相は、種別分離を与えるためにトコトリエノール類及びトコフェロール類の間の芳香族性及び疎水性の差異に関連した選択性を与えるべきである。従って、アルキルシラン及び/または芳香族置換基を含む逆相媒体がトコトリエノール類をトコフェロール類からまず一つの群として溶離させるので、かかる逆相媒体が上記の要件を満足することが判明した。

【0016】トコトリエノール類またはトコフェロール類の個々の異性体の分割は、以下に検討される使用液体クロマトグラフィ粒子の形状及び寸法ならびに移動相の補充に依存する。本発明方法の好ましい態様においては、一般的に 10 ミクロンまたはそれよりも大きい親油性粒子が使用されるべきである。10 ミクロンよりも小さなビーズは、高圧発生、高コスト、及び一般的に入手し難いことのために大規模分離においては実用され難い。「1工程」プロセスのためには、10 から 80 ミクロンの範囲内の単一寸法球状粒子が使用されるべきである。「2工程」プロセスのためには、10 から 80 ミクロンの範囲内の単一寸法球状粒子が使用されるべきであるが、13-35 ミクロンの不規則な逆相シリカ及び 40-63 ミクロンの逆相不規則シリカも使用することができる。シリカ、ポリスチレン/ジビニルベンゼン、ポリメタクリレート、及びセルロース等を包含する一般的な親油性逆相クロマトグラフィ担体は、1工程プロセスまたは2工程プロセスのいずれのためにも使用できる。液体クロマトグラフィカラムは、当技術分野で知られている従来法のいずれかで選定移動相を用いて製造できる。任意のタイプの液体クロマトグラフィカラムも使用できるが、ダイナミック軸方向圧縮カラム (dynamic axial compression colu

mn; 米国イリノイ州エヴァンストンのTechnikrom社)の使用によって、高い分離効率及び著しく長いカラム床寿命の利益が得られる。

【0017】移動相

使用することができる移動相は、最終製品及び粗原料の溶解度における制限要件によって決定される。本発明方法は、水と一緒にされて、最終製品及び粗原料が溶解し得る移動相を形成するための一般的に使用されている逆相クロマトグラフィ溶媒によって実施し得る。本発明方法の好ましい態様においては、より安全で、より安価なエタノールのような溶媒が使用されるべきである。しかしながら、メタノールのようなその他のアルコール、及びアセトニトリルも使用できる。大規模分離のためには、移動相において使用される溶媒がコスト効率的であり、かつ溶媒の大用量故に大量に入手できる品位のものであることが、重要である。本発明方法の実施例のためには、190ブルーフUSP(米国薬局方)エタノール及び脱イオン水を使用した。水の濃度が増加するにつれて、溶解度が低減し、かくして移動相での30%を超える水は、回避されるべきである。

【0018】移動相のアイソクラチック(isocratic)溶離(操作中一定の溶媒濃度の使用)よりも移動相のグラジエント(gradient)溶離(時間経過に伴い溶媒混合物中の溶媒の量を増加)の方式は、最終製品の分離を改善するために使用できる。さらには、移動相の線速度も、所望の製品を溶離するのに必要とされる時間量に影響を与えることになる。精密ポンプ装置の使用によって、分離操作の間中、正確な流量制御が可能となる。このようにするとプロセスの自動化ができ、再現性のある方式で製品を溶離するために一定均一な流量が確保される。

【0019】移動相の線速度または流量は、許容し得るクロマトグラフィ規準内にとどまるべきである。クロマトグラフィ理論は、拡散による分離の悪化を避けるために線速度が50cm/時より低くしてはならないことを示す。線速度の上限は、一般的には、移動相を分配するカラム、弁、配管、及びポンプの圧力制限によって決定される。圧力制限がなくても、流量は、製品と固定相表面との間の不適切な化学相互作用が起り得るので、100cm/時を越えるべきでない。

【0020】以下の実施例は、移動相の変化がトコトリエノール類、トコフェロール類及びそれらの異性体の分離に如何に影響をあたえるかを示すものである。この第1の実施例は同一の溶媒の種々の濃度を用いて三つのアイソクラチック操作(時間の経過に伴っての移動相中の溶媒の濃度を変えない操作)を行う。第2の実施例は、異なる溶媒を使用して二つの同一グラジエント操作(時間の経過に伴い移動相中の溶媒の濃度を増加させての操作)を行う。これらの実施例は、本発明方法の例示目的のためのものであり、何ら限定的なものではない。

【0021】それぞれ図1、2及び3に対応する「98%USPエタノール」、「97%USPエタノール」及び「95%USPエタノール」の標識を付したクロマトグラムは、製品及び粗原料の溶解度が一定に維持される限り、移動相中の溶媒の含量が低減するにつれて(他の全てのパラメーターは一定)、分離が増強されることを示す。分離増強はより高い仕込み容量を可能とするが、それはトコトリエノール類及びトコフェロール類の溶離時間をも増加させる。

【0022】「40分間90%-100%アセトニトリル」の標識を付けたクロマトグラム(図4)及び「40分間90%-100%メタノール」の標識を付けたクロマトグラム(図5)は、(他の全てのパラメーターを一定として)アセトニトリルがメタノールよりも良好な分離を与えることを示すが、エタノールは作業のためにより安全であり、かなり安価であるので、好ましい。

【0023】仕込み

クロマトグラフカラムに粗原料が如何に仕込まれるかは、最終製品の分離に影響を与えるであろう。プロセス用クロマトグラフィの主要な目的は、カラムにできるだけ多くの粗原料を仕込み、しかも成分の所望の分離を維持することである。このことは、目的がカラムから溶離する成分の適切な検出を得るために必要とされる最小量の物質を仕込むことである分析用クロマトグラフィ法と相違する。

【0024】トコトリエノール類及びトコフェロール類またはそれらの異性体の製造的単離のためには、仕込むことができる粗原料の量が二つの主たる因子によって左右されることが判明した。その因子の第1は、粗原料の溶解度及び、それが含む所望製品(単、または複数)及び不純物の量を包含する比補充率のような粗原料の物理的特性である。第2は、精製されるべき所望の製品(単、または複数)、例えばトコフェロール類からのトコトリエノール類の「種別分離」のみが所望されるならば、粗原料の仕込み量は、異性体の各々の分離が所望される場合よりも、はるかに多くし得る。

【0025】

【実施例】プロセス実施例

これらの実施例は、トコトリエノール類、トコフェロール類及びそれらの異性体類の精製または濃厚化を達成するために如何に異なる固定相が使用できるかを示すものである。これらの方法の各々は、数百グラムの純粋物質を単離するために利用された。もちろん、以下に記載されたもの以外の異なる固定相及び移動相を、用途によって要求されるならば本発明と調和して組合せることができる。

【0026】以下の単一工程プロセス法は、単一カラム単一工程プロセスを用いてヤシ油抽出物からトコトリエノール類、トコフェロール類及びそれらの異性体類を単離するのに用いられた。

【0027】固定相：100Åの細孔を有する10μm C18結合球状シリカ

移動相：90%USPエタノール/10%脱イオン水

溶離様式：アイソクラチック

線速度：360cm/時

仕込み：充填物質100g当たり粗抽出物約1g（1重量/重量%仕込み）

この結果は、図6に示されている。いくらかの極性不純物10の溶離の後、トコトリエノール類12は、デルタ14、ガンマ16及びアルファ18異性体の分離を伴って、溶離する。次にトコフェロール類20は、デルタ22、ガンマ24、及びアルファ26異性体の分離を伴って、溶離する。

【0028】以下の二工程プロセス法は、単一または二カラム及び二工程プロセスを用いてヤシ油抽出物からトコトリエノール類、トコフェロール類及びそれらの異性体類を単離するのに用いられた。この方法は、純粋な異性体を得るのに好ましい。

【0029】工程#1：純粋なトコトリエノール及びトコフェロールの混合物を得るための粗原料の予備クリーニング

固定相：90Åの細孔を有する15-35μmC18結合不規則シリカ

移動相：96%USPエタノール/4%脱イオン水

溶離様式：アイソクラチック

線速度：42.4cm/時

仕込み：充填物質100g当たり粗抽出物約2.7g（2.7重量/重量%仕込み）

図7に示されるように、いくらかの極性不純物28の溶離後、トコトリエノール類が一つの大きなバンドで溶離する。このトコトリエノール類のバンドを過ぎてプロセスを続けると、トコフェロール類が同様な様式で溶離して来るであろう。

【0030】工程#2：純粋異性体の高生産性のためのオーバーラップ仕込み

固定相：90Åの細孔を有する15-35μmC18結合不規則シリカ

移動相：96%USPエタノール/4%脱イオン水

溶離様式：アイソクラチック

線速度：42.4cm/時

仕込み：オーバーラップ（部分重複）仕込み=100分毎に仕込まれる充填物質100g当たり粗抽出物約0.5g（0.5重量/重量%仕込み）

図8を参照すると、デルタ32、ガンマ34及びアルファ36トコトリエノール異性体が、良好に分離している。仕込みをオーバーラップすることにより、高生産量連続プロセスについて100分毎にこれら三種の異性体の維持ずれかの捕集が可能となる。

【0031】上記の使用及び実施例に加えて、当業者にとって、本発明の範囲、精神及び教示を逸脱することなく本発明の方法を改変、変形することが可能であることは了解されよう。従って、この明細書の記載は、本発明を説明するためのものであり、本発明は、特許請求の範囲に記載される事項ならびにその均等の範囲であると考えられるべきである。

【図面の簡単な説明】

【図1】 93.1%のエタノールを含む移動相での本発明方法による分離を示すクロマトグラム（横軸：時間；min./縦軸：mV、以下同じ）。

【図2】 92.21%のエタノールを含む移動相での本発明方法による分離を示すクロマトグラム。

【図3】 90.3%のエタノールを含む移動相での本発明方法による分離を示すクロマトグラム。

【図4】 40分にわたり90%ないし100%のアセトニトリルを用いての本発明の方法による分離を示すクロマトグラム。

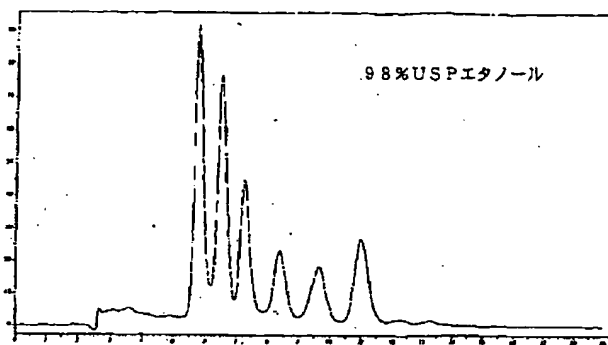
【図5】 40分にわたり90%ないし100%のメタノールを用いての本発明の方法による分離を示すクロマトグラム。

【図6】 単一工程プロセスを用いての分離の結果を示すクロマトグラム。

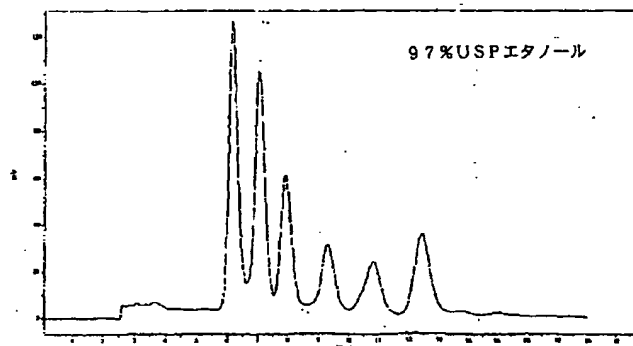
【図7】 二工程プロセスを用いての分離第1工程の結果を示すクロマトグラム。

【図8】 二工程プロセスを用いての分離第2工程の結果を示すクロマトグラム。

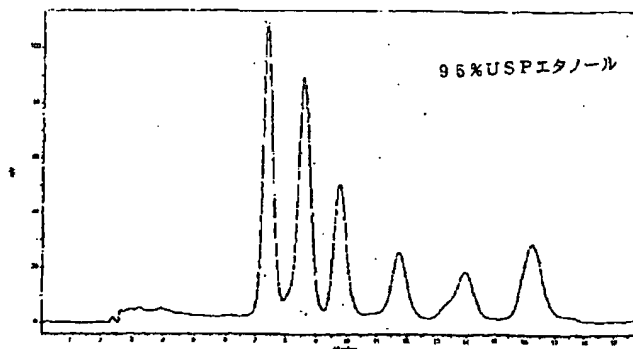
【図1】



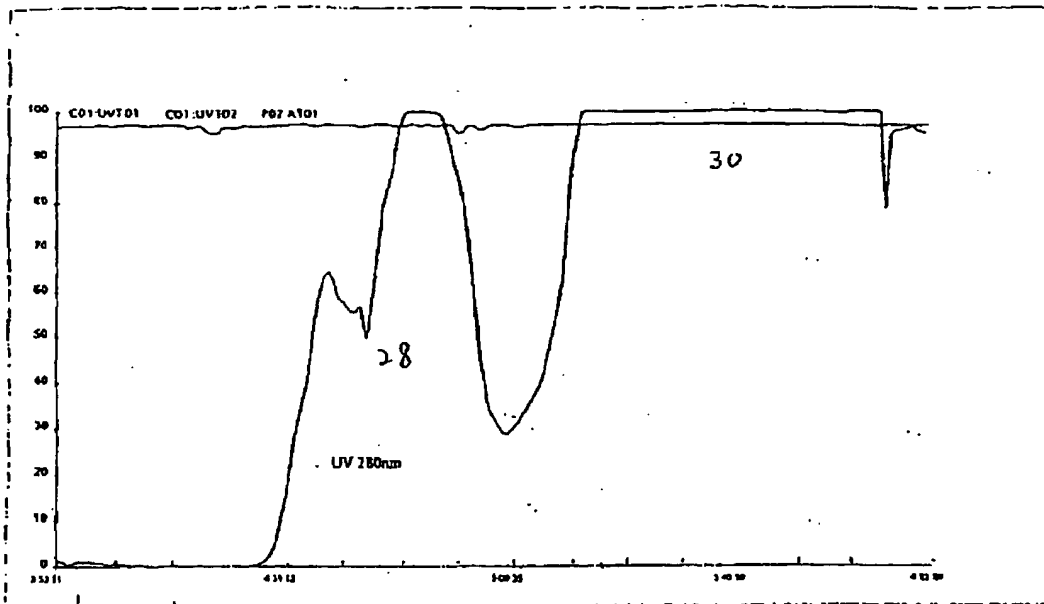
【図2】



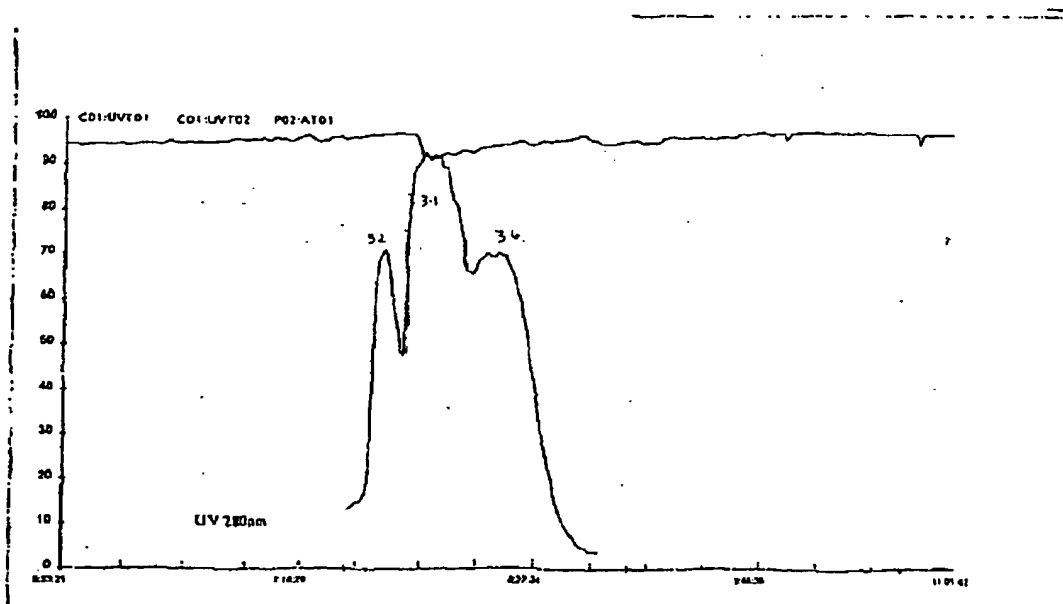
【図3】



【☒7】



【☒8】



BEST AVAILABLE COPY